

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УО «ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ДОСТИЖЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ, КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ И ФАРМАЦИИ

Материалы 67-ой научной сессии сотрудников университета

2-3 февраля 2012 года

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431-52.82я431
Д 70

Редактор:

Профессор, доктор медицинских наук В.П. Дейкало

Заместитель редактора:

доцент, кандидат медицинских наук С.А. Сушков

Редакционный совет:

Профессор В.Я. Бекиш, д.ф.н. Г.Н. Бузук, профессор В.С. Глушанко, профессор С.Н. Занько, профессор В.И. Козловский, профессор Н.Ю. Коневалова, д.п.н. З.С. Кунцевич, профессор Н.Г. Луд, д.м.н. Л.М. Немцов, профессор М.А. Никольский, профессор В.И. Новикова, профессор В.П. Подпалов, профессор М.Г. Сачек, профессор В.М. Семенов, профессор А.Н. Щупакова, доцент Ю.В. Алексеенко, доцент С.А. Кабанова, доцент Л.Е. Криштопов, доцент С.П. Кулик, доцент П.С. Васильков, доцент И.А. Флоряну.

Д 70 Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. Материалы 67-й научной сессии сотрудников университета. – Витебск: ВГМУ, 2012. – 521 с.

ISBN 978-985-466-518-4

Представленные в рецензируемом сборнике материалы посвящены проблемам биологии, медицины, фармации, организации здравоохранения, а также вопросам социально-гуманитарных наук, физической культуры и высшей школы. Включены статьи ведущих и молодых ученых ВГМУ и специалистов практического здравоохранения.

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431+52.82я431

© УО «Витебский государственный
медицинский университет», 2012

ISBN 978-985-466-518-4

кову необходимо учитывать возможный диапазон колебания тонометрического ВГД в зависимости от полученных данных Р птм – чем меньше пневмотонометрическое давление, тем больше максимальный интервал колебания тонометрического ВГД. При Р птм 10-12 мм. рт. ст. возможно прибавление до 6 единиц для соотношения с результатами тонометрии по Маклакову; при Р птм 13-15 мм. рт. ст. – 5 единиц; при Р птм 16-18 мм. рт. ст. – 3 единицы; при Р птм 19-21 мм. рт. ст. – 2 единицы; при Р птм 22-23 мм. рт. ст. – не более 1 единицы.

Средние показатели пневмотонометрии в условиях нормы составили 16 мм. Нг ст. (тонометрии по Маклакову с грузиком 10 г. – 20 мм. Нг ст.).

При пневмотонометрии (как и при тонометрии

по Маклакову) асимметрия тонометрических показателей парных глаз у лиц без патологии ВГД в большинстве случаев не выходит за пределы 3 мм. Нг ст, однако диапазон может быть шире (до 6 мм. Нг ст.), чем при исследовании по Маклакову.

Литература:

1. Алексеев, В.В. Оценка влияния параметров роговой оболочки на результаты тонометрии в здоровой популяции / В.В. Алексеев // Клиническая офтальмология. Глаукома. – 2008. – №4. – С. 128–130.

2. Мачехин, В.А. Сравнение данных пневмотонометрии (Reichert 7) и аппланационной тонометрии по Маклакову / В.А. Мачехин // Клиническая офтальмология. Глаукома. – 2010. – №4. – С. 123–125.

МЕТОДИКА ВЫДЕЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССОВ IGA И IGG

Коротина О.Л., Генералов И.И.

УО «Витебский государственный ордена дружбы народов медицинский университет»

Актуальность. В современной медицине и биотехнологии все более широкое распространение получают диагностические и лечебные средства на основе высокоочищенных препаратов иммуноглобулинов (ИГ) и антител (АТ). Область их практического применения чрезвычайно велика. В частности, специфические АТ являются важнейшим компонентом тест-систем, предназначенных для иммунодиагностики [3], диагностические препараты на основе конъюгатов АТ с флуоресцентной или радиоактивной меткой, используются для визуализации опухолевых поражений, воспалительных и тромботических очагов.

С другой стороны, в последнее время в лечебную практику все более активно внедряются терапевтические средства на основе моноклональных химерных АТ (мАТ). Их использование коренным образом меняет тактику лечения наиболее распространенных аутоиммунных и опухолевых заболеваний (препараты инфликсимаб, ритуксимаб, омализумаб, даклизумаб и др., целевая (или «таргет») терапия опухолей конъюгатами «мАТ-цитостатик» и т.д. [4])

Еще одной важной нетривиальной задачей является получение чистых препаратов АТ и ИГ для последующей оценки их каталитической (абзимной) активности, что в последнее время активно используется в диагностике аутоиммунной патологии [2].

Все вышеуказанные средства для диагностики и лечения требуют получения высокочистых препаратов АТ и ИГ. Однако до сих пор эта техническая задача остается достаточно сложной. Наиболее оптимально она решена для препаратов иммуноглобулинов класса G, для которых разработаны высокопроизводительные аффинные матрицы на основе бактериальных лигандов – протеина А и протеина

G. В свою очередь, эффективная очистка АТ класса IgA является весьма трудной, хотя многие моноклональные АТ и высокоактивные каталитические АТ относятся к IgA.

Для IgA в настоящее время предложены 2 основные группы методов. Одна из них базируется на селективной адсорбции IgA на жакалин-сефарозе (лектин-аффинная очистка). Однако данный способ позволяет выделять только IgA подкласса 1, которые составляют лишь 40-70% от общего IgA в различных биологических жидкостях.

Другой метод получения IgA основан на многоступенчатой очистке препарата многократной ионообменной (DEAE-сефадекс) и эксклюзионной (сефадекс G200) хроматографией. Данная методика весьма трудоемка и требует нескольких дней для выполнения [3].

В настоящей работе мы предлагаем методику одновременного выделения IgG и IgA из сыворотки крови с разделением иммуноглобулинов соответствующих классов.

Целью исследования стала разработка комбинированной методики раздельного получения высокоочищенных препаратов IgG и IgA из малых объемов сыворотки.

Материал и методы. В качестве материала для получения ИГ использовали сыворотку доноров крови (источник – Витебская областная станция переливания крови). Было изучено несколько схем предварительной очистки сыворотки: двукратное переосаждение 40% сульфатом аммония, градиентное двукратное переосаждение 30% и 45% сульфатом аммония, обработка сыворотки раствором риванола (2-этокси-6,9-диаминоакридина лактата) [3].

В качестве базовой схемы очистки на первом этапе применили переосаждение 1-3 мл сыворотки 1,5% раствором риванола в соотношении 1:1 в течение 1 часа при комнатной температуре. Использование риванола обеспечивает удаление альбумина, а также альфа- и бета-глобулинов из образца сыворотки [1].

Далее препарат ИГ подвергали гель-фильтрации на мелкопористой декстрановой матрице «Молселект Г10» (элюент – 0,15М раствор хлорида натрия). Объем сорбента в полипропиленовых колонках диаметром 10 мм составлял 8-10 мл. Проводили элюцию и собирали выходящие фракции.

Полученный после этого препарат подвергали аффинной хроматографии, пропуская его через колонку с агарозой, конъюгированной с рекомбинантным протеином А золотистого стафилококка (Pierce, США), уравновешенную 0,1М фосфатным буфером. После этого колонку отмывали до исчезновения белка в элюенте. Элюцию связавшихся иммуноглобулинов класса G вели 0,1М глицин-HCl буфером pH 2,8 (отбирали отдельно фракции по 1-1,5 мл). Фракции, содержащие наиболее высокие концентрации белка, объединяли. Концентрацию белка определяли по методу Бредфорд.

Качественное определение ИГ различных классов в образцах проводили иммунодиффузией по Оухтерлони [1]. Для этого использовали антисыворотки к сывороточным ИГ классов G, A, M производства РНИИЭМ им.Н.Ф.Гамалеи (Москва).

Результаты и обсуждение. Иммунохимический контроль содержания сывороточных ИГ классов G, A, M в полученных фракциях выявил, что после переосаждения сыворотки 1,5% раствором риванола в образце остаются IgG и IgA при осаждении балластных белков сыворотки. Последующая гель-фильтрация проб на Молселекте Г10 не приводила к потерям ИГ при полном удалении риванола.

Иммунохимический анализ после аффинной

хроматографии препарата на стафилококковом протеине А установил, что на данном этапе удается полностью разделить IgA и IgG в элюатах. Фракция IgA выходит сразу в свободном объеме при аффинной хроматографии. В отдельных экспериментах в свободном объеме также обнаруживалось небольшое количество IgG, которые, однако, элюировались после IgA-фракций. Наиболее вероятно эти IgG принадлежат к IgG3-подклассу, который не взаимодействует с протеином А.

В дальнейшем весь оставшийся IgG выходил из колонки после элюции 0,1М глицин-HCl буфером pH 2,8. Интересно, что в начале элюции с колонки высвобождается минорная фракция IgA, которая также может быть собрана отдельно.

Таким образом, предложенный вариант хроматографии позволяет из одного образца сыворотки получить отдельные препараты IgA и IgG в условиях одного эксперимента.

Выводы. Разработана комбинированная аффинно-хроматографическая методика получения препаратов IgA и IgG, свободных от примесей других иммуноглобулинов по данным иммунохимического анализа.

Литература:

1. Главинская, Т.А. Использование электрофореза в геле для фракционирования риванолрастворимых сывороточных белков // Лаб.дело.–1976.–№10.–С. 586–602.
2. Сучков, С.В. Достижения и перспективы клинической абзимологии / С.В. Сучков [и др.] // Вестн. РАМН. – 2005. – №9. – С. 38-43.
3. Иммунологические методы / Под ред. Г.Фримеля: пер.с нем. – М., 1987.
4. Synthesis of the next-generation therapeutic antibodies that combine cell targeting and antibody-catalyzed activation / S. Abraham [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2007. – Vol. 104. – P. 5584-5589.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ МЫШЕЧНЫХ СЛОЕВ В ПРОСТАТЕ МУЖЧИН ПЕРВОГО ПЕРИОДА ЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА

Краснобаев В.А.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Актуальность. Гладкая мышечная ткань является важным структурно-функциональным элементом простаты человека и часто вовлекается в гиперпластический процесс при развитии её доброкачественной гиперплазии [2, 6]. При этом изменяется структура мышечной ткани, ориентация пучков гладких миоцитов, их толщина и в сравнении с простатой мужчин в возрасте наивысшей функциональной активности органа. Существуют различные мнения относительно участия мышечной ткани и её роли в возникновении узлов гиперплазии. По данным Н.Е.

Савченко и соавт. [5] до 60 % стромы гиперплазированной простаты составляет гладкая мышечная ткань. Мнения по вопросам строения и развития мышечной ткани простаты человека в онтогенезе разноречивы, так как получены на разновозрастном материале. В научной литературе имеются лишь единичные сведения о закономерностях взаиморасположения желез и пучков гладкой мышечной ткани. Недостаточно изучено строение мышечно-железистых комплексов в связи с их основной функцией – продукцией и эвакуацией секрета.